

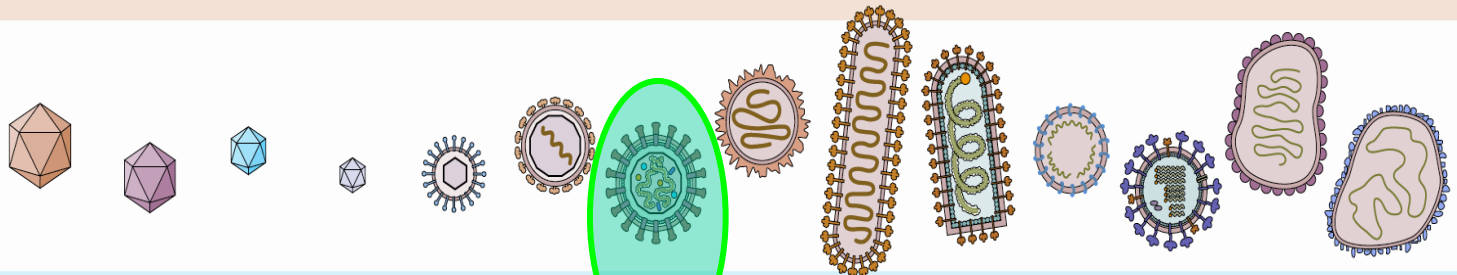
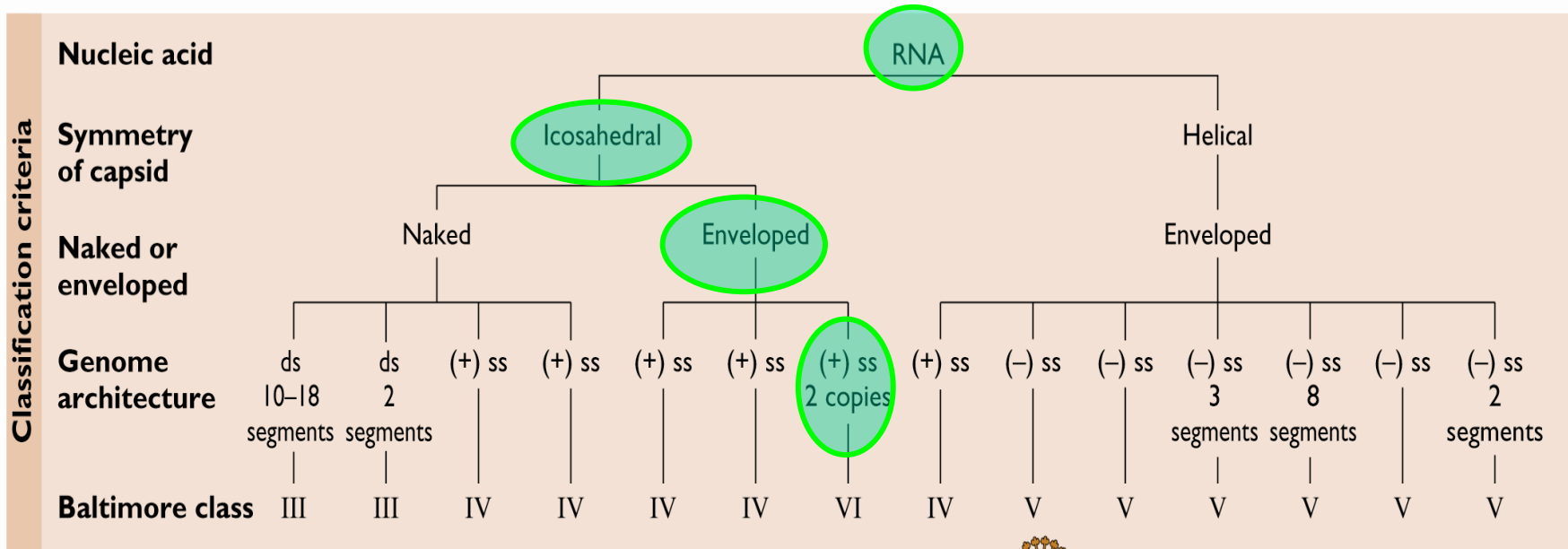
# **FAMILIA RETROVIRIDAE**

**Prof. Adj. Dra. Dora Ruchansky**

**Departamento de Bacteriología y Virología**

**Instituto de Higiene - Facultad de Medicina**

**Abril 2010**



**Properties**

| Family name               | Reo   | Birna | Calici | Picorna | Flavi | Toga  | Retro  | Corona | Filo               | Rhabdo                 | Bunya   | Orthomyxo | Paramyxo | Arena  |
|---------------------------|-------|-------|--------|---------|-------|-------|--------|--------|--------------------|------------------------|---------|-----------|----------|--------|
| Virion polymerase         | (+)   | (+)   | (-)    | (-)     | (-)   | (-)   | (+)    | (-)    | (+)                | (+)                    | (+)     | (+)       | (+)      | (+)    |
| Virion diameter (nm)      | 60-80 | 60    | 35-40  | 28-30   | 40-50 | 60-70 | 80-130 | 80-160 | 80 x<br>790-14,000 | 70-<br>85 x<br>130-380 | 90-120  | 90-120    | 150-300  | 50-300 |
| Genome size (total in kb) | 22-27 | 7     | 8      | 7.2-8.4 | 10    | 12    | 3.5-9  | 16-21  | 12.7               | 13-16                  | 13.5-21 | 13.6      | 16-20    | 10-14  |

| FAMILIA             | SUBFAMILIA               | GENERO                   | EJEMPLOS   |
|---------------------|--------------------------|--------------------------|--|
| <i>Retroviridae</i> | <i>Orthoretrovirinae</i> | <i>Alpharetrovirus</i>   | Virus del sarcoma y leucemia de aves (AVL)*  |
|                     |                          | <i>Betaretrovirus</i>    | Virus de tumor mamario de ratón (MMTV)*  |
|                     |                          | <i>Gammaretrovirus</i>   | Virus relacionado con leucemia de ratón (Mo-MLV)*  |
|                     |                          | <i>Deltaretrovirus</i>   | Virus linfotrópico humano de células T (HTLV-1, HTLV-2)*<br>Virus linfotrópico bovino (BLV)*       |
|                     |                          | <i>Lentivirus</i>        | Virus de la inmunodeficiencia humana (HIV-1, HIV-2)*<br>Virus de la inmunodeficiencia Simia (SIV)* |
|                     |                          | <i>Epsilonretrovirus</i> | Wally dermal sarcoma virus   |
|                     | <i>Spumaretrovirinae</i> | <i>Spumavirus</i>        | Espumavirus Humano (HFV)*  |

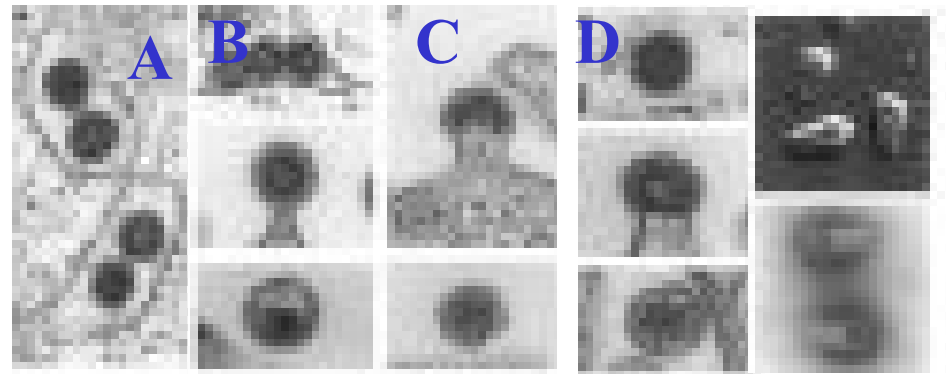
### Clasificación de acuerdo a morfología:

Tipo A: Partículas intracisternales, esféricas de 60-90 nm en diámetro con lumen central, consideradas como formas virales inmaduras no patógenas (A)

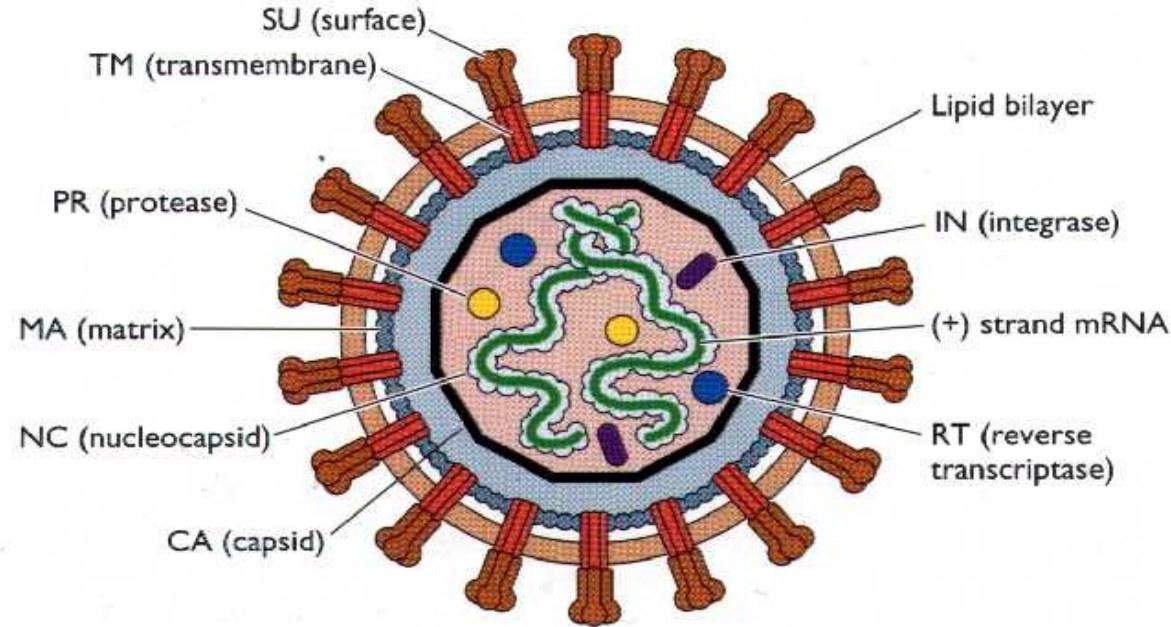
Tipo B. Virión acéntrico, en forma de anillo, (B)

Tipo C: Partículas de 90-110 nm de diámetro, nucleocapside central. C

Tipo D: Similares a las B con espículas más



# ESTRUCTURA DE LOS RETROVIRUS



- Virus esférico envuelto
- Diametro: 90 – 130 nm
- Pequeñas proyecciones en su superficie
- Nucleocapside esférica o en cono truncado
- 2% de ácido nucleico. (2 ARN (+) y 1 ARNt (trp, pro, lys). Su tamaño varía entre 8 a 11 kb.

| Sigla     | Proteína                            | Función  |
|-----------|-------------------------------------|--|
| <b>MA</b> | <b>Matriz</b>                       | Proteína de la matriz (gen gag)  |
| <b>CA</b> | <b>Capside</b>                      | Proteínas de la capside (gen gag); protege al core.  |
| <b>NC</b> | <b>Nucleocapside</b>                | Proteína de la capside (gen gag); protege al genoma, forma parte del core.                             |
| <b>PR</b> | <b>Proteasa</b>                     | Esencial para el clivaje de la proteína Gag durante la maduración                                      |
| <b>RT</b> | <b>Transcriptasa Reversa</b>        | Retrotranscripción del RNA genómico, también tiene actividad RNAsaH                                    |
| <b>IN</b> | <b>Integrasa</b>                    | Codificada por el gen pol, es necesaria para la integración del provirus                               |
| <b>SU</b> | <b>Glicoproteínas de superficie</b> | Proteínas externas de la envoltura; Antígeno viral muy importante. Interviene en la unión al receptor. |
| <b>TM</b> | <b>Proteína transmembrana</b>       | Glicoproteínas internas de la envoltura madura   |

## **Características del genoma de los retrovirus:**

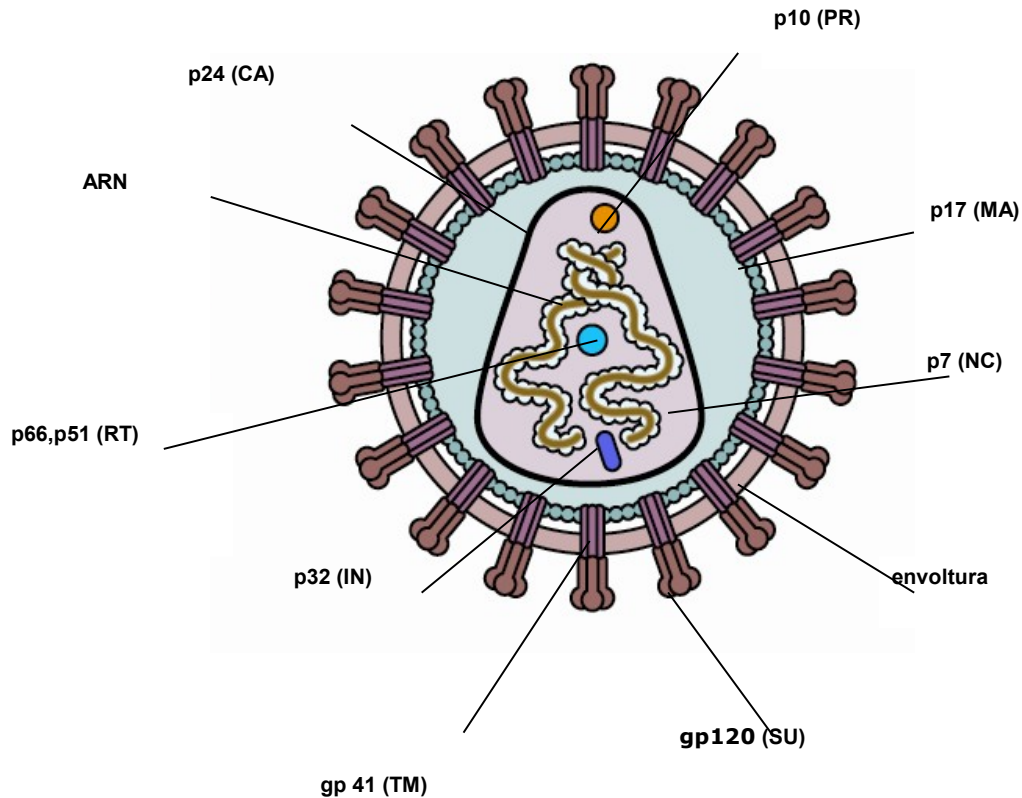
- 1. Su genoma diploide es único entre todos los virus (posibilidad de recombinación)**
- 2. Son los únicos virus ARN cuyo genoma es producido por la maquinaria transcripcional celular (sin la participación de una polimerasa codificada por el propio virus)**
- 3. Son los únicos virus cuyo genoma requiere de un RNA celular específico (tARN) para replicar.**
- 4. Son los únicos virus ARN + cuyo genoma no sirve directamente como ARNm inmediatamente después de la infección.,**

# VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA

Familia ***Retroviridae***

Subfamilia ***Orthoretrovirinae***

Género ***Lentivirus***



Tipos: VIH-1 y VIH-2

✓ Virus esférico envuelto (90–130 nm)

✓ Genoma: 2 hebras simples de ARN +

✓ Proteínas de Superficie

gp120-gp41 // gp105-gp36

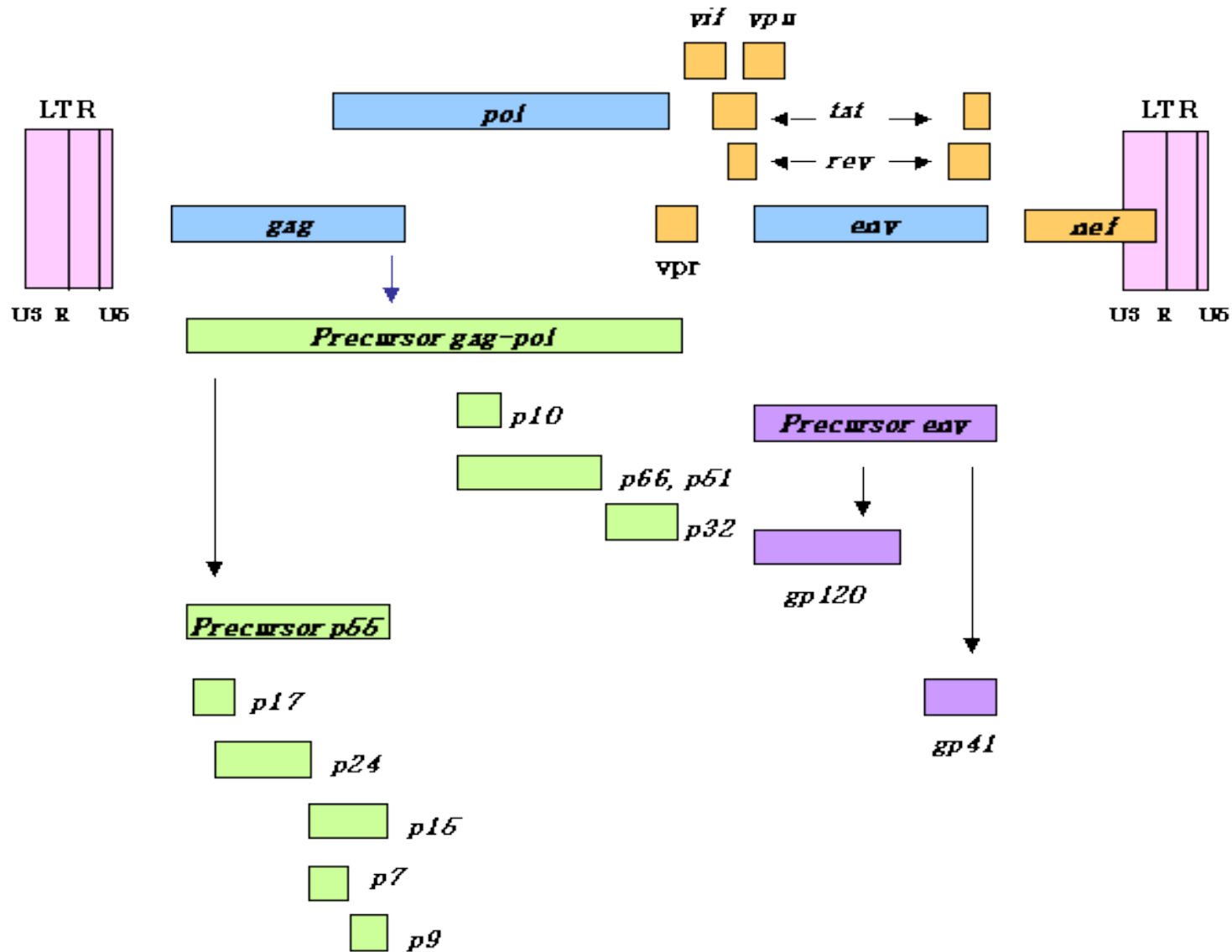
✓ Polimerasas unidas al ARN

p65/51; p31 // p68 – p34

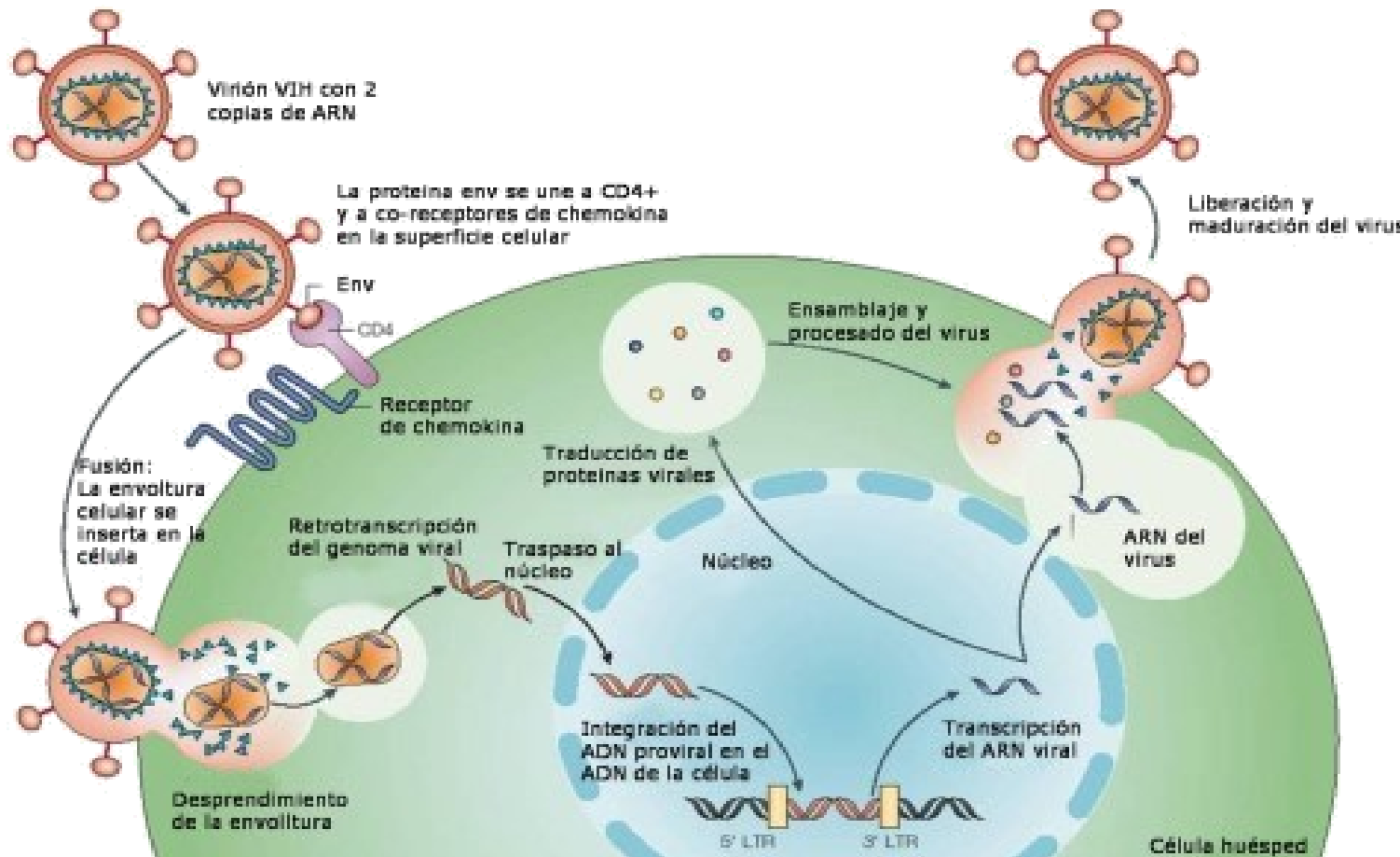
✓ Proteínas del Core

p17 -p24 // p16 - p26

# Organización genómica del HIV-1



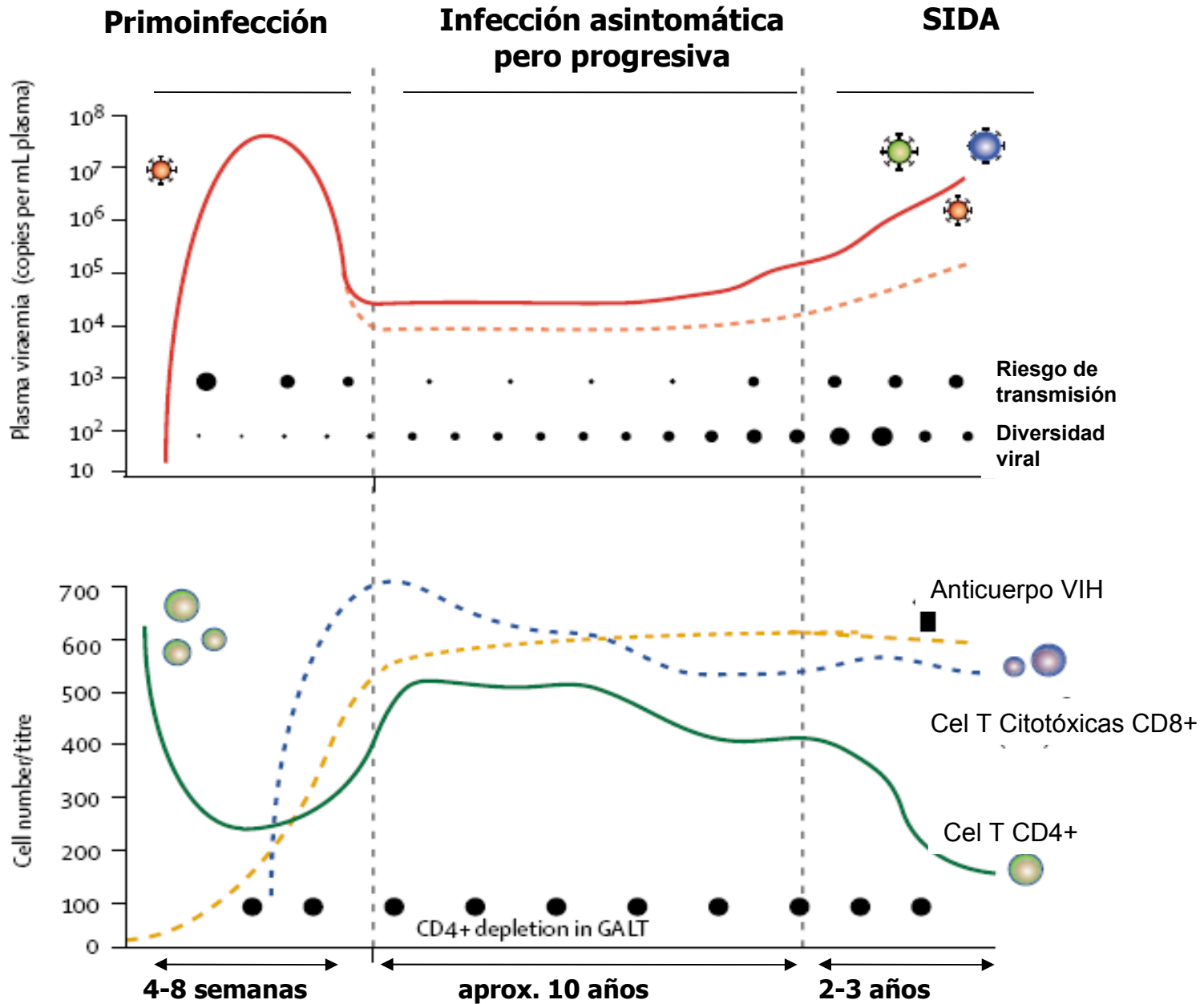
# CICLO DEL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA



Células blanco:

Linfocitos T CD4, Monocitos, Macrofagos, Cél de Langherans, Cél dendríticas

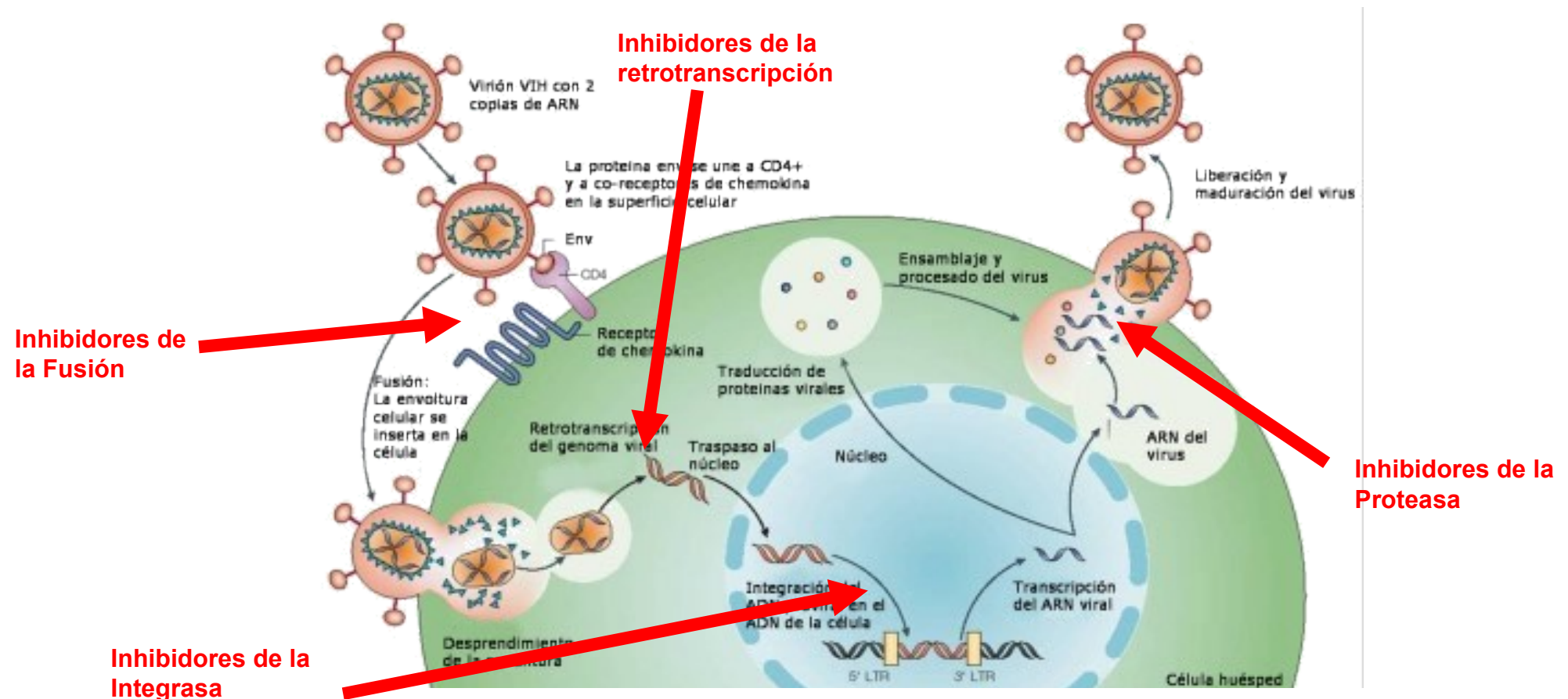
# HISTORIA NATURAL DE LA INFECCION POR VIH



# Terapia antirretroviral (TARV)

La finalidad del Tratamiento Antirretroviral (TARV) es reducir al máximo y durante el mayor tiempo la replicación viral. El otro objetivo es preservar o restaurar el sistema inmune de la persona infectada.

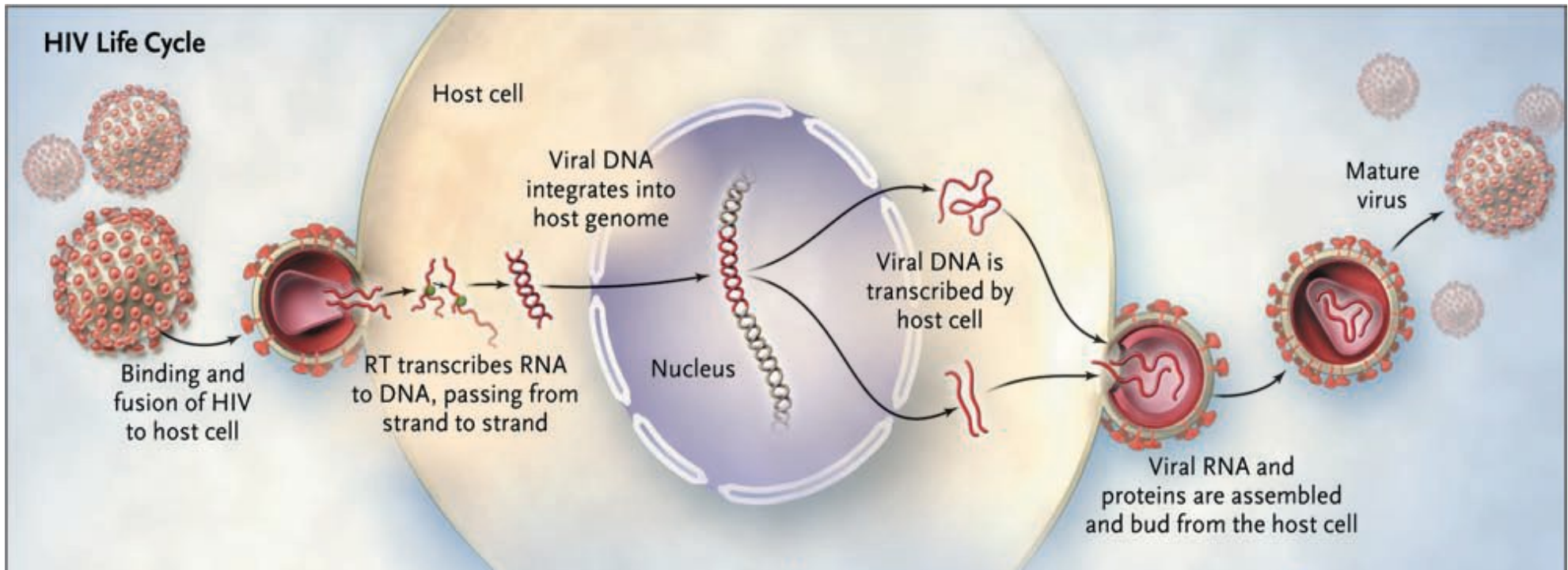
Su aplicación, de acuerdo a las buenas prácticas clínicas ha disminuído la morbilidad y ha logrado una sustancial mejoría en la calidad de vida y años de sobrevida de los pacientes.



# Diversidad Genética del VIH

| TIPO  | GRUPO          | SUBTIPO                        | RECOMBINANTES              |
|-------|----------------|--------------------------------|----------------------------|
| HIV-1 | M (mayor)      | A,B,C,D,"E",F<br>G,H,"I",J,K,L | A/E, B/F, A/G<br>A/G/H/K/U |
|       | O (outlier)    |                                |                            |
|       | N (no M, no O) |                                |                            |
|       | P              |                                |                            |
| HIV-2 |                | A,B,C,D,E,F                    |                            |

# FACTORES DE VARIABILIDAD GENETICA DEL VIH

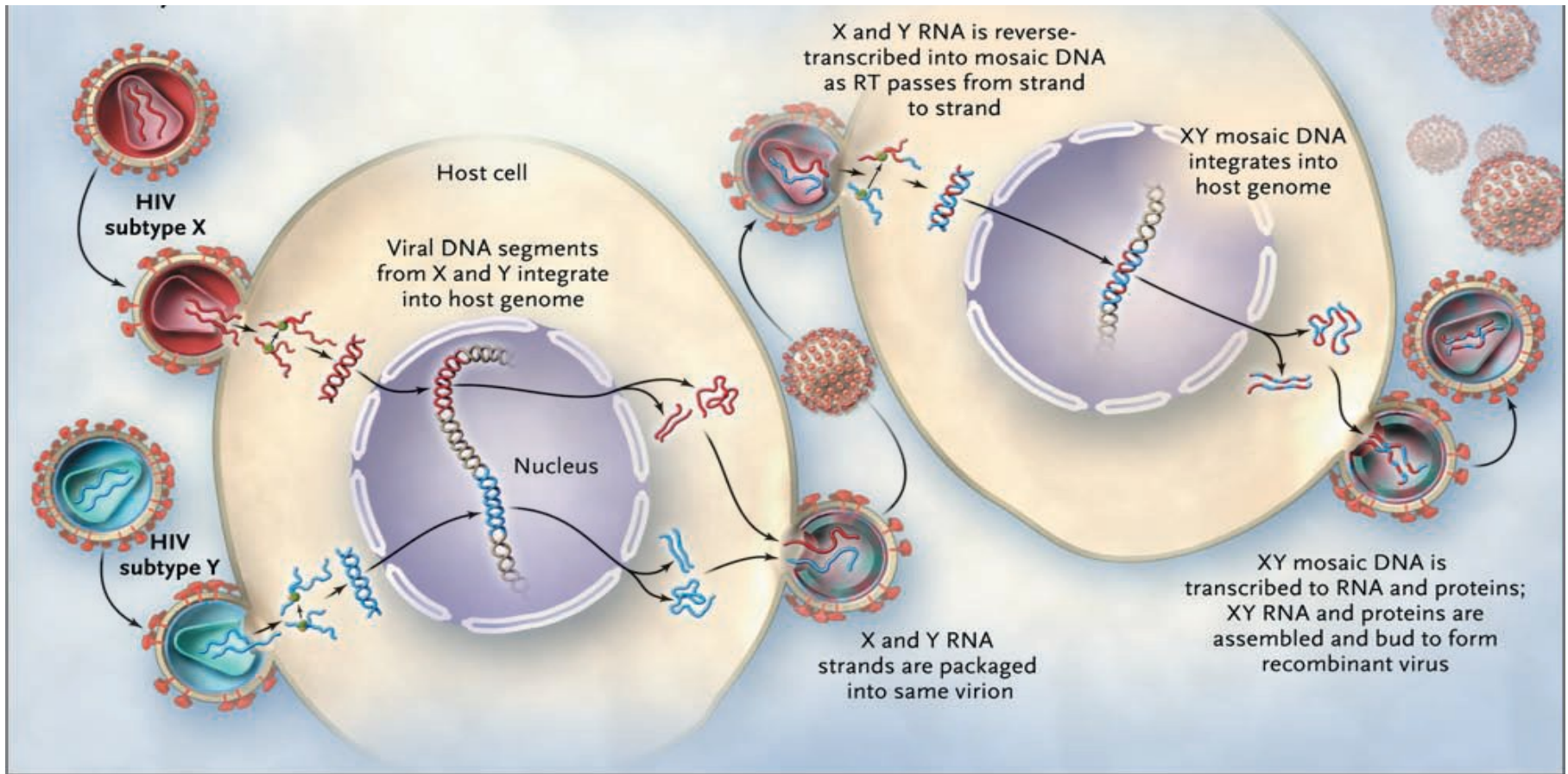


**Alta tasa de mutación:**  
1 nucleótido/genoma/ciclo

**Recombinación:**  
~ 7-30/genoma/ciclo

**Rápida replicación:**  
 $4,4 \times 10^{10}$  partículas virales/día

# FACTORES DE VARIABILIDAD GENETICA DEL VIH

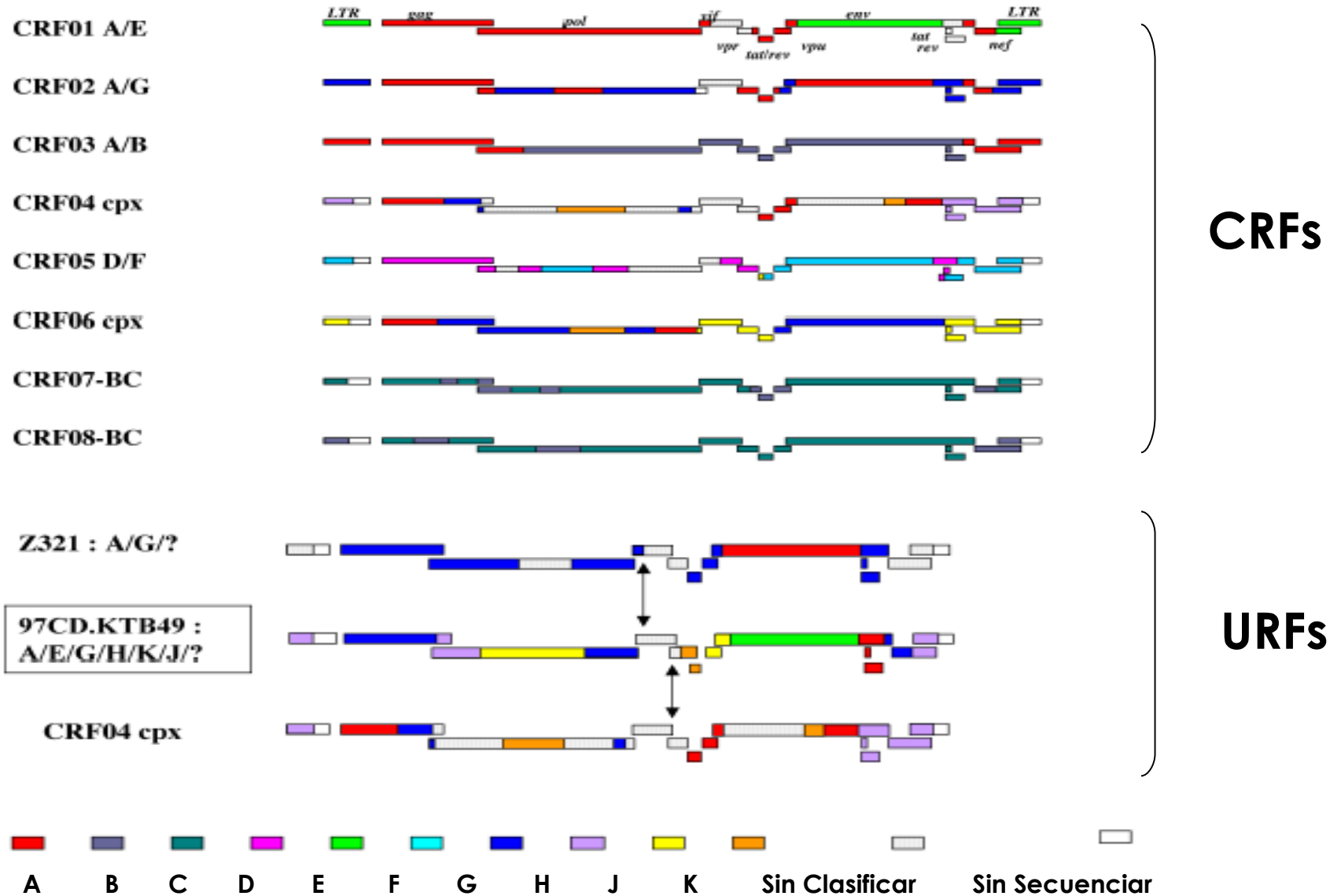


**Recombinación retroviral: Coinfección de subtipos distintos**

**CRF: formas recombinantes circulantes,**

**URF : formas recombinantes únicas**

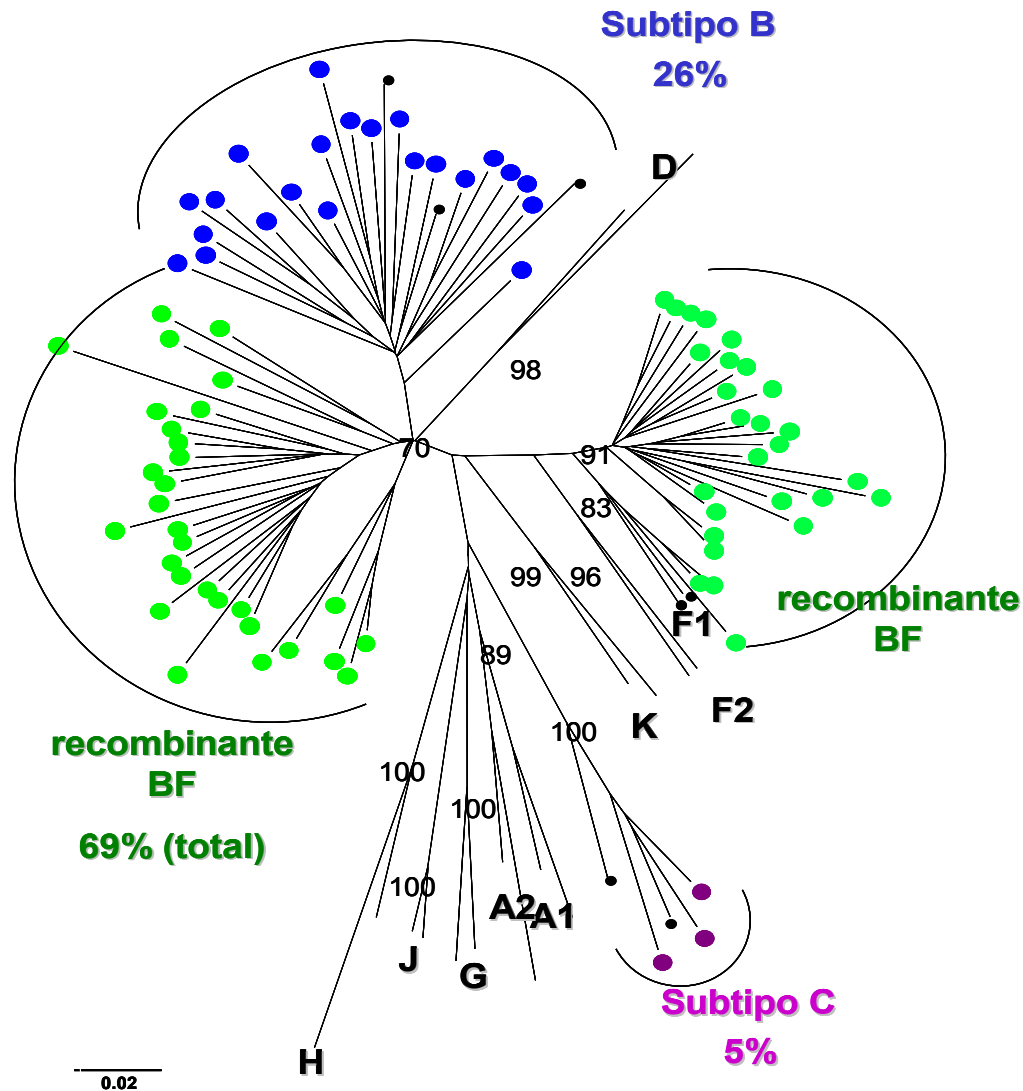
# ESTRUCTURA GENÓMICA DE LAS FORMAS RECOMBINANTES



# Distribución Geográfica del VIH



# EPIDEMIA DE VIH / SIDA EN URUGUAY



Ruchansky, D, et al. 14th International Hiv Dynamics & Evolution, Segovia, April 2007, #42

Ruchansky D et al. 2009 AIDS Res Hum Retroviruses 25, 351-6.

# DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

## Estudio de respuesta inmune humoral: IgM, IgA, IgG

### •Test de Tamizaje :

- Enzimo inmuno análisis (EIA)
- Test rápidos
- Aglutinación de partículas

### •Test Confirmatorios

- Western Blot (WB)
- Ensayo en Línea (LIA)

## Detección directa de presencia viral

- Estudio de Proteinas virales (Ag p24)
- Estudio de Acidos nucleicos: ADN proviral  
ARN viral

# Estudio de respuesta inmune humoral: IgM, IgA, IgG

Los test serológicos se basan en la interacción Antígeno - Anticuerpo.

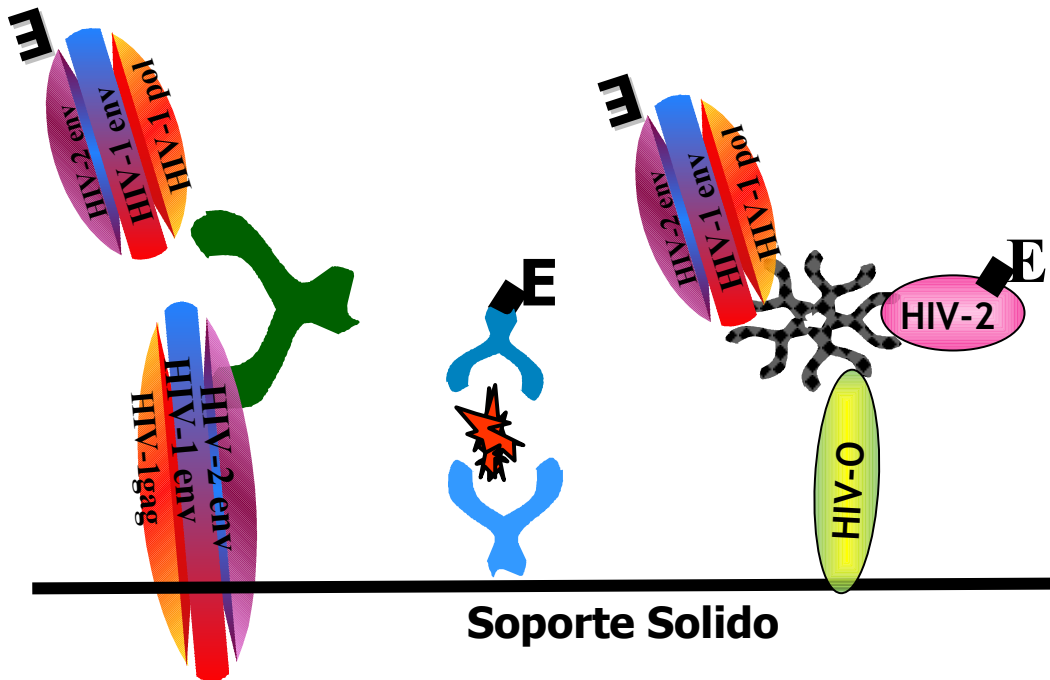
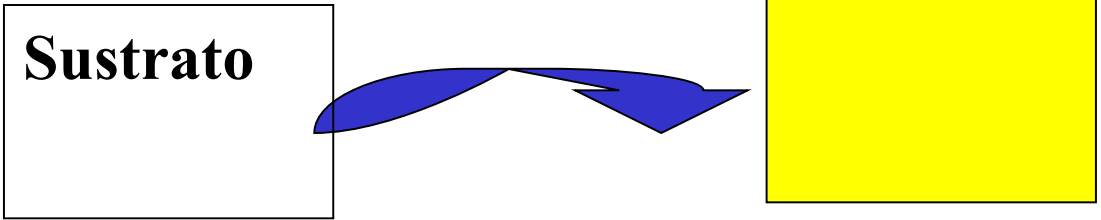
## • Test de Tamizaje

- Son **altamente sensibles** para poder detectar los Ac en la muestra.
- Detectan anticuerpos para HIV-1 y HIV-2 (sin lograr discriminar)
- Detectan anticuerpos contra grupo M y O
- Antígenos: Lisado total de virus, Proteínas recombinantes, Peptidos sintéticos

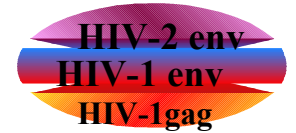
## • Test Confirmatorios

- Son **altamente específicos** para confirmar con certeza la presencia de Ac. Específicos contra HIV.
- Pueden discriminar infección por HIV-1 o por HIV-2

# EIA 4ª GENERACION



Proteínas  
recombinantes



Peptidos sintéticos



Ac paciente



Ag viral

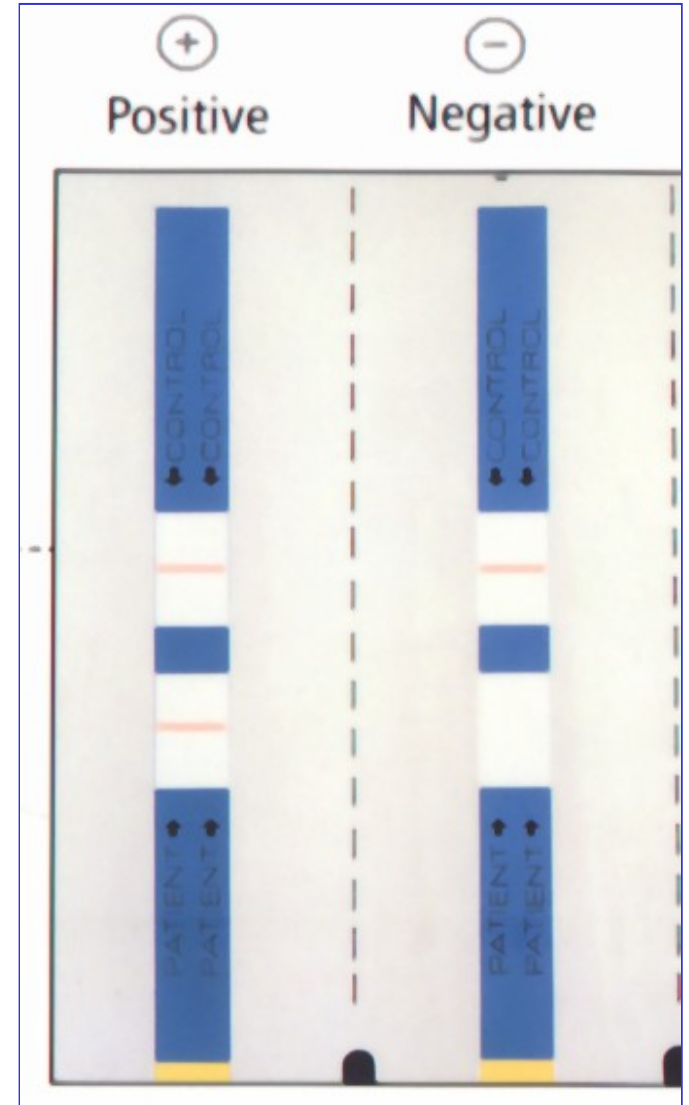
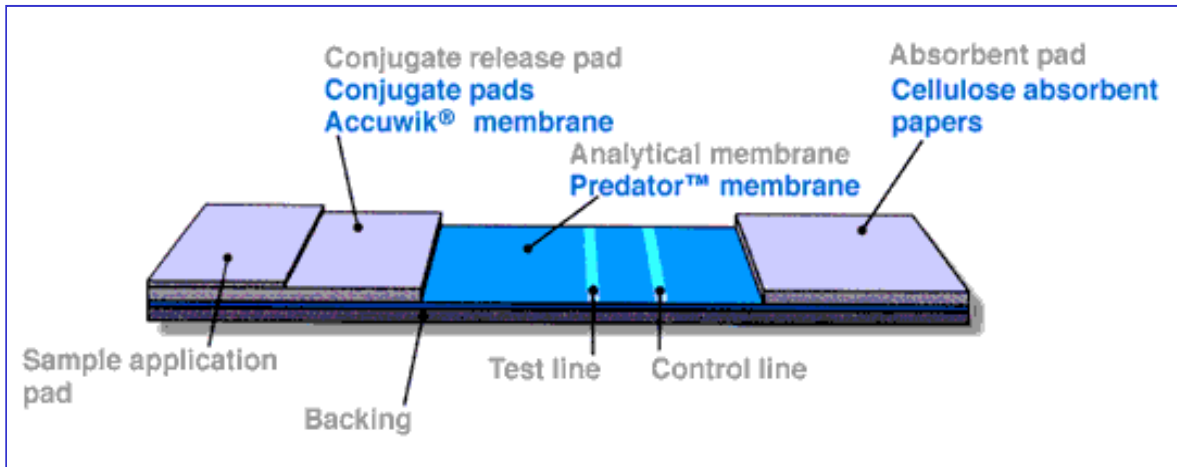


Ac conjugado



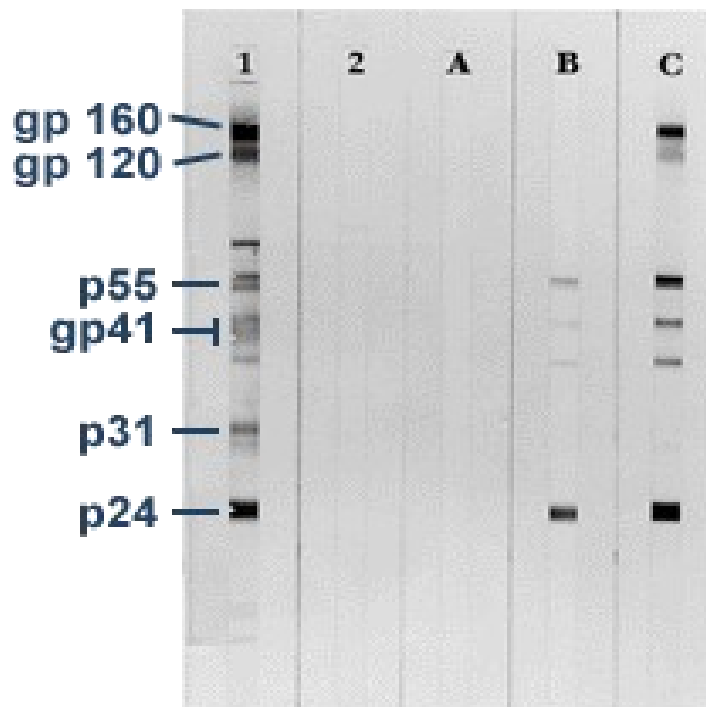
- **Muy buena especificidad**
- **Detecta bajos títulos de Anticuerpos (seroconversión)**
- **Buena sensibilidad para Ac. anti HIV-2 y Ac. anti grupo M y O de HIV-1,**
- **Detecta IgG e IgM**
- **Detecta Ag virales**
- HIV-1 (grupo M y O)**
- HIV-2**

# TEST RAPIDOS

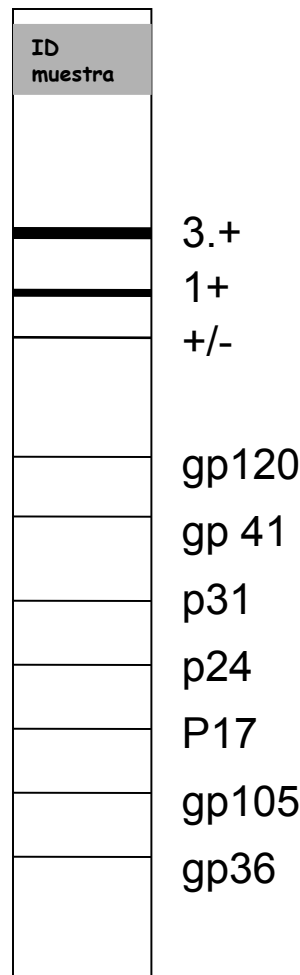


# TEST CONFIRMATORIOS

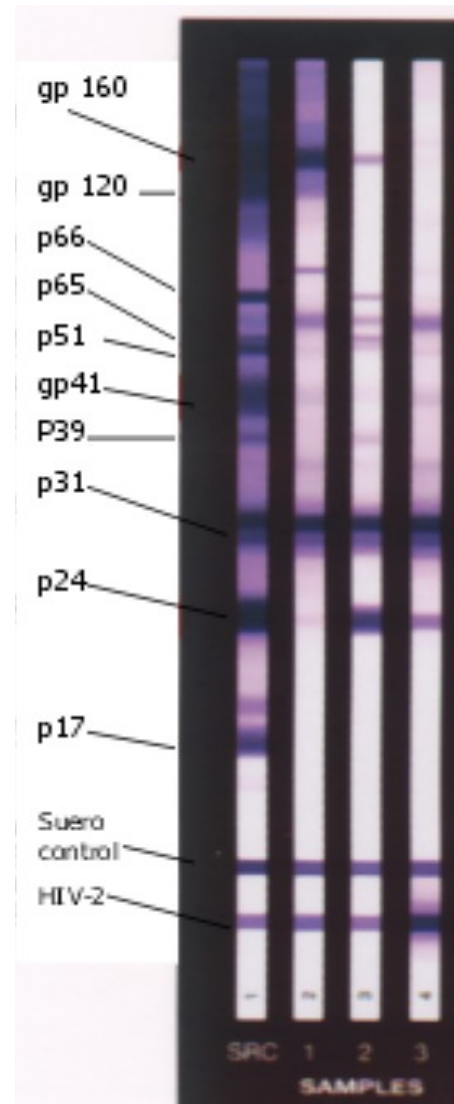
## Western Blot



## LIA



## WB mejorado

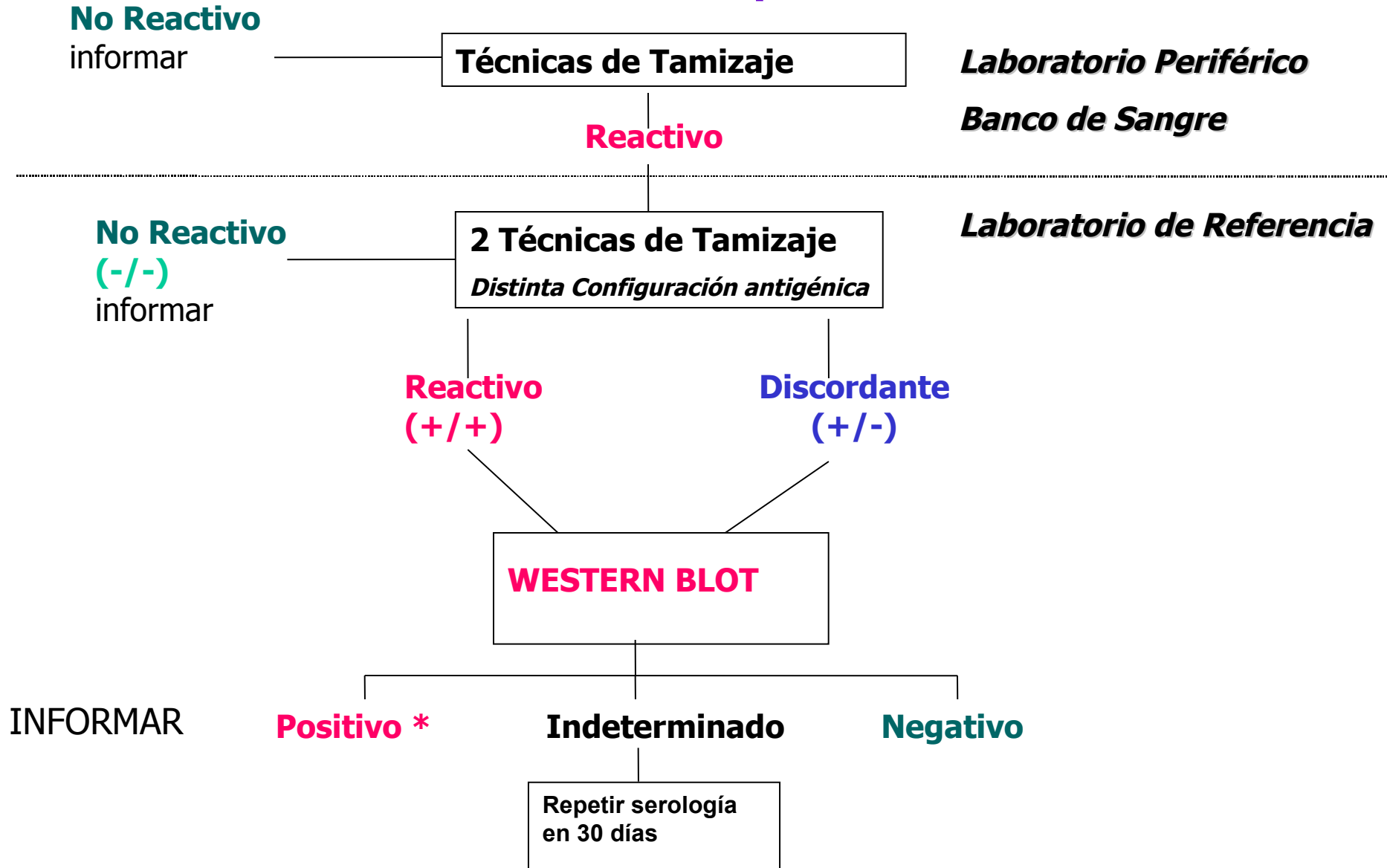


**Criterios:**

**WB Positivo:** p24, gp41, gp120/160  
(p24 con al menos otra)

**WB Negativo:** Ausencia total de Bandas

# Algoritmo para el diagnóstico serológico de la infección por VIH



# Aplicación de Técnicas de Biología Molecular en la Infección por HIV

## Detección cualitativa de Acido Nucleico (ADN proviral o ARN viral)

- Diagnóstico en niños nacidos de madres seropositivas.
- Serología indeterminada
- Hipoglobulinemia

## Detección cuantitativa de Acido Nucleico (ARN viral)

**Carga Viral** ( nº copias de ARN v/ml) en pacientes infectados

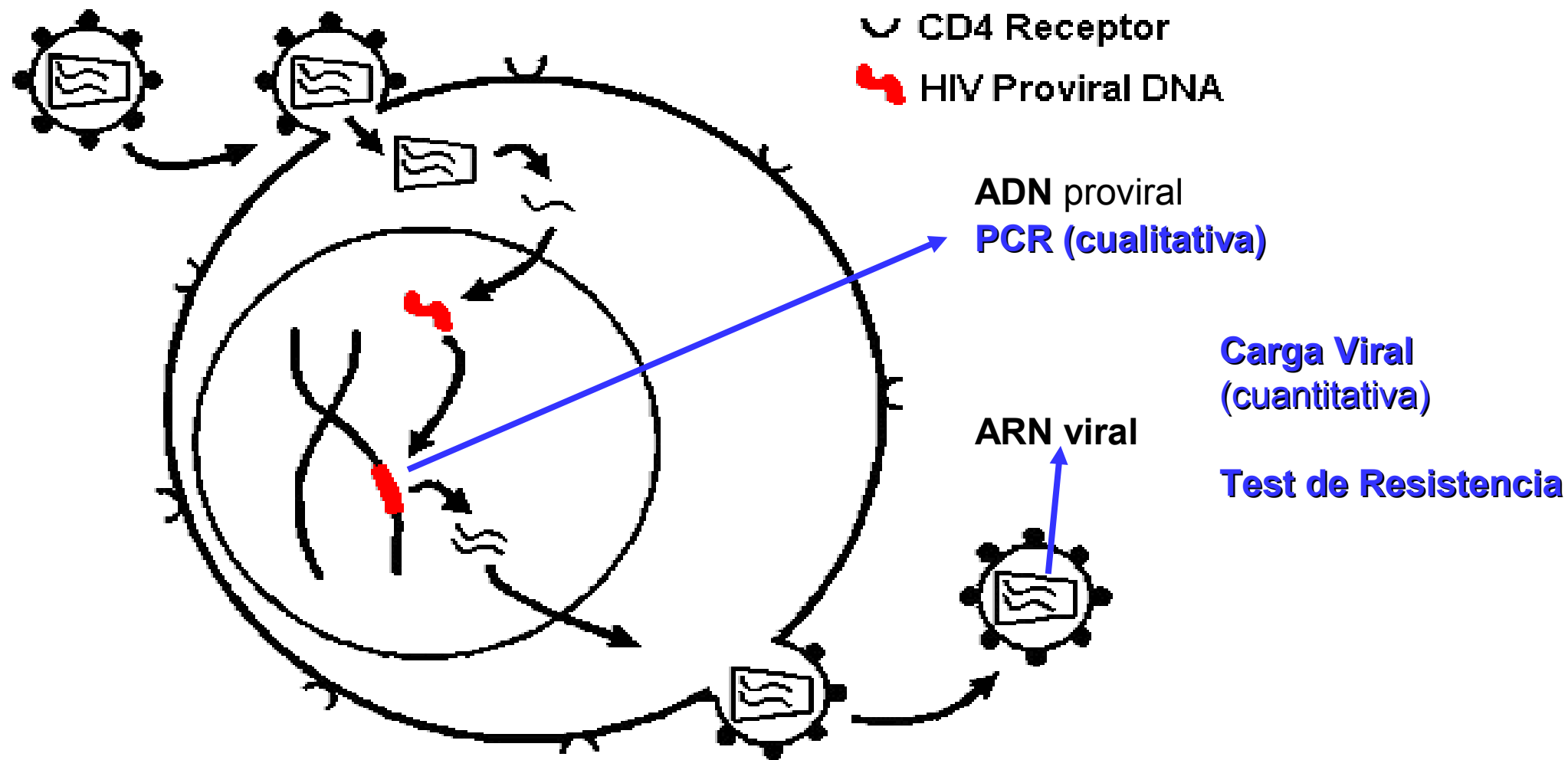
- Inicio de tratamiento
- Evaluación de tratamiento
- Cambios de tratamiento

## Estudios de variabilidad genética del VIH

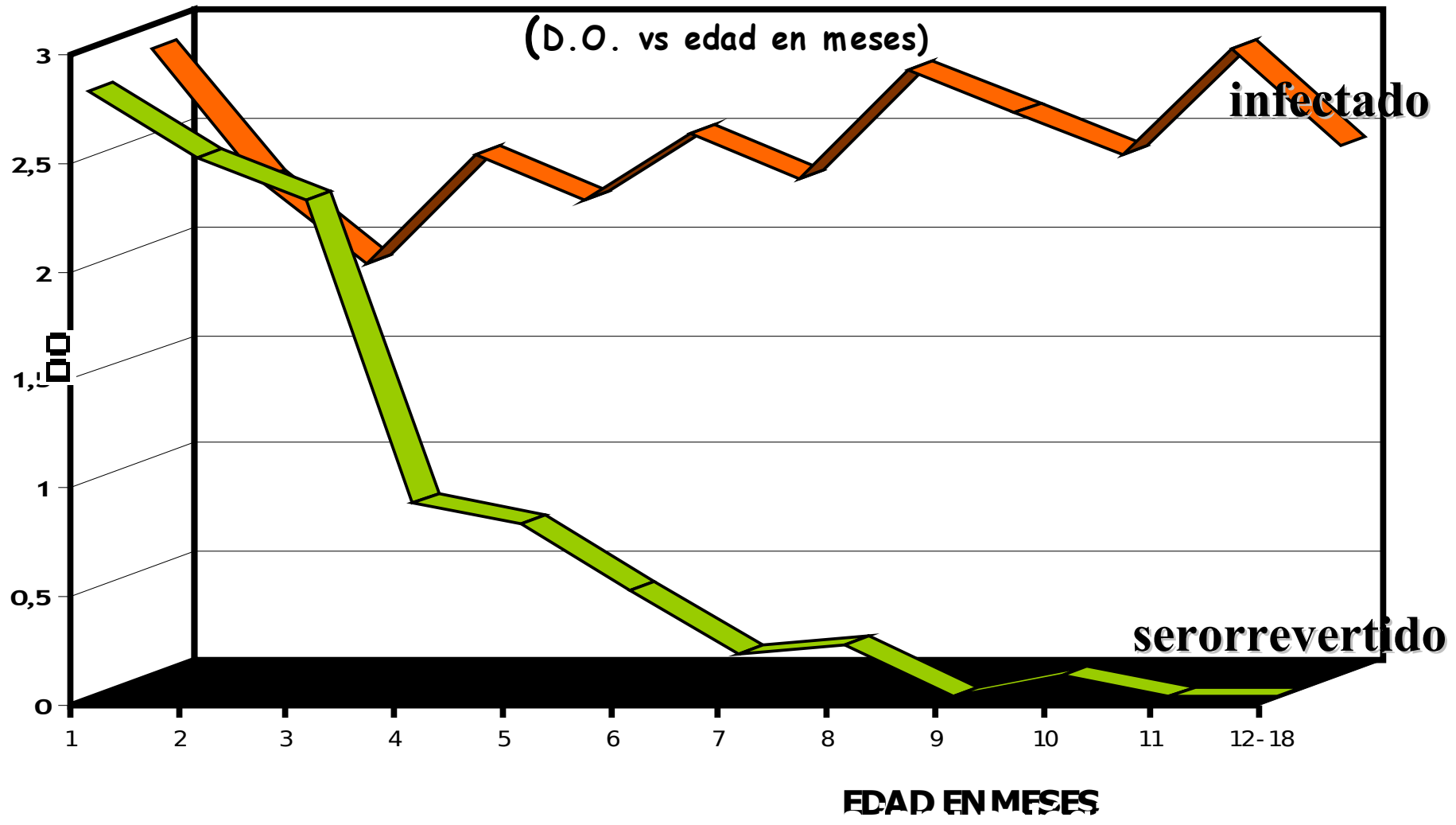
- Caracterización molecular de tipos (VIH1-VIH2), subtipos y recombinantes

## Estudio resistencia a drogas antiretrovirales

# Aplicación de Técnicas de Biología Molecular en la Infección por VIH



# Dinamica de los Ac. Anti-HIV (IgG) en niños nacidos de madres VIH +



# Seguimiento en el laboratorio del niño nacido de madre VIH +

48 hs – 2 semanas de vida

PCR, Elisa, Western Blot

PCR -

PCR+/-

1 – 2 meses de vida

PCR  
•PCR  
•Carga Viral  
•Población Linfocitaria

PCR -

PCR +

PCR +

PCR -

>5 meses de vida

PCR  
PCR  
Carga Viral  
Población Linfocitaria

PCR  
Carga Viral  
Población Linfocitaria  
PCR

PCR -

PCR -  
PCR +

PCR +

PCR -

PCR -  
PCR +

Infección poco probable

nueva PCR

infectado

nueva PCR

## **Seguimiento en el laboratorio del niño nacido de madre VIH +**

### **•Diagnostico de no infección: 3 PCR –**

**2 muestras negativas en dos momentos distintos en niños >1 mes de vida, más 1 muestra negativa en > 4 meses de vida**

### **•Diagnostico de infección: 3 PCR +**

**3 muestras positivas en dos momentos distintos y al menos una de ellas en niños > 4 meses**

### **•Diagnostico de serorreversión:**

**2 o más muestras con ELISA y Western Blot negativos entre los 6 y 18 meses de edad y dosificación de inmunoglobulinas normales**

***En todos los casos seguir con ELISA hasta 18 meses de edad***

# **EL LABORATORIO de VIROLOGÍA EN LA INFECCIÓN POR VIH EN PEDIATRÍA**

## **Diagnostico de la Infección por VIH**

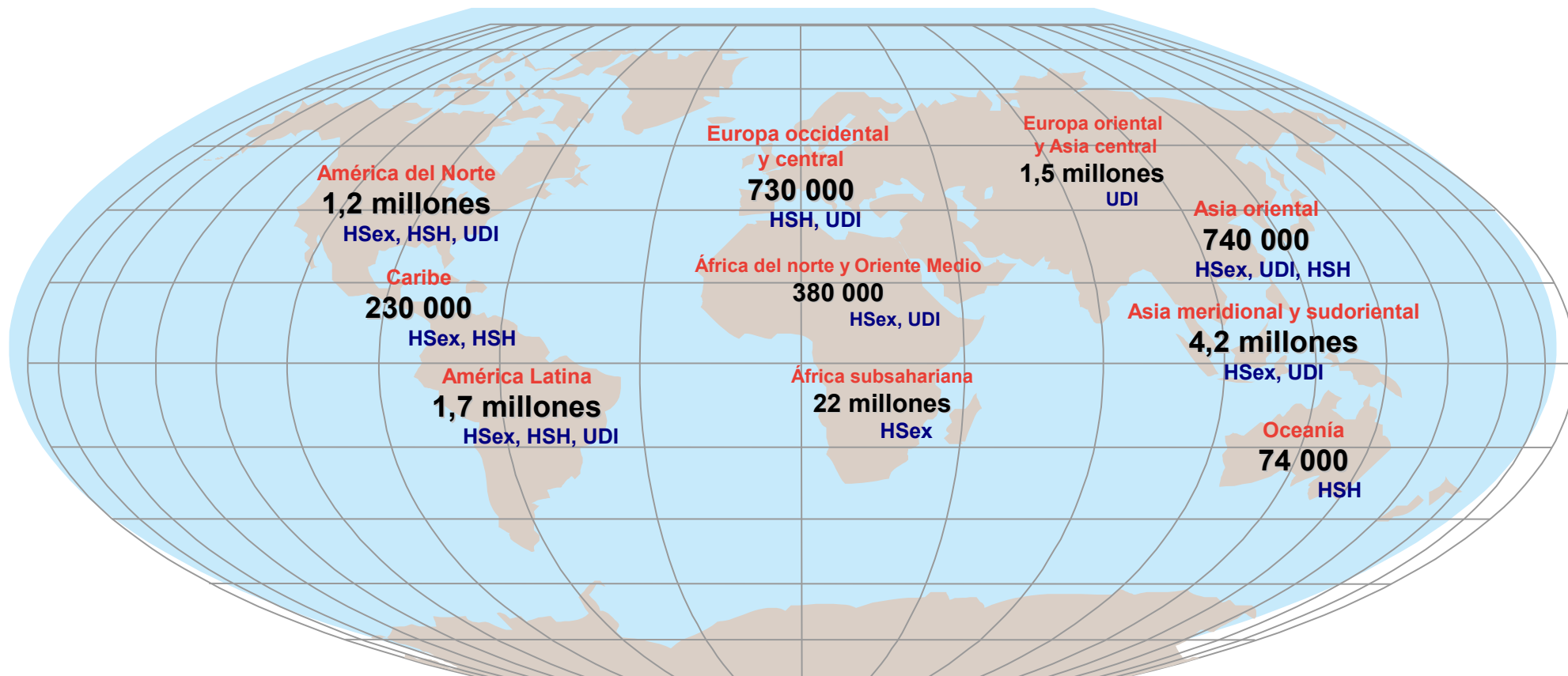
- **Niños mayores de 18 meses: ELISA - Western Blot**
- **Niños menores de 18 meses: Determinación Cualitativa**
  - ADN proviral**
  - ARN viral**

## **Seguimiento de Niños infectados**

- **Carga Viral : n° de copias de ARN v/ ml**
  - Inicio de tratamiento**
  - Evaluación de tratamiento**
  - Cambios de tratamiento**
- **Estudio de Resistencia a drogas antirretrovirales**

# Distribución mundial de niños y adultos viviendo con VIH

## Principales vías de transmisión por región.



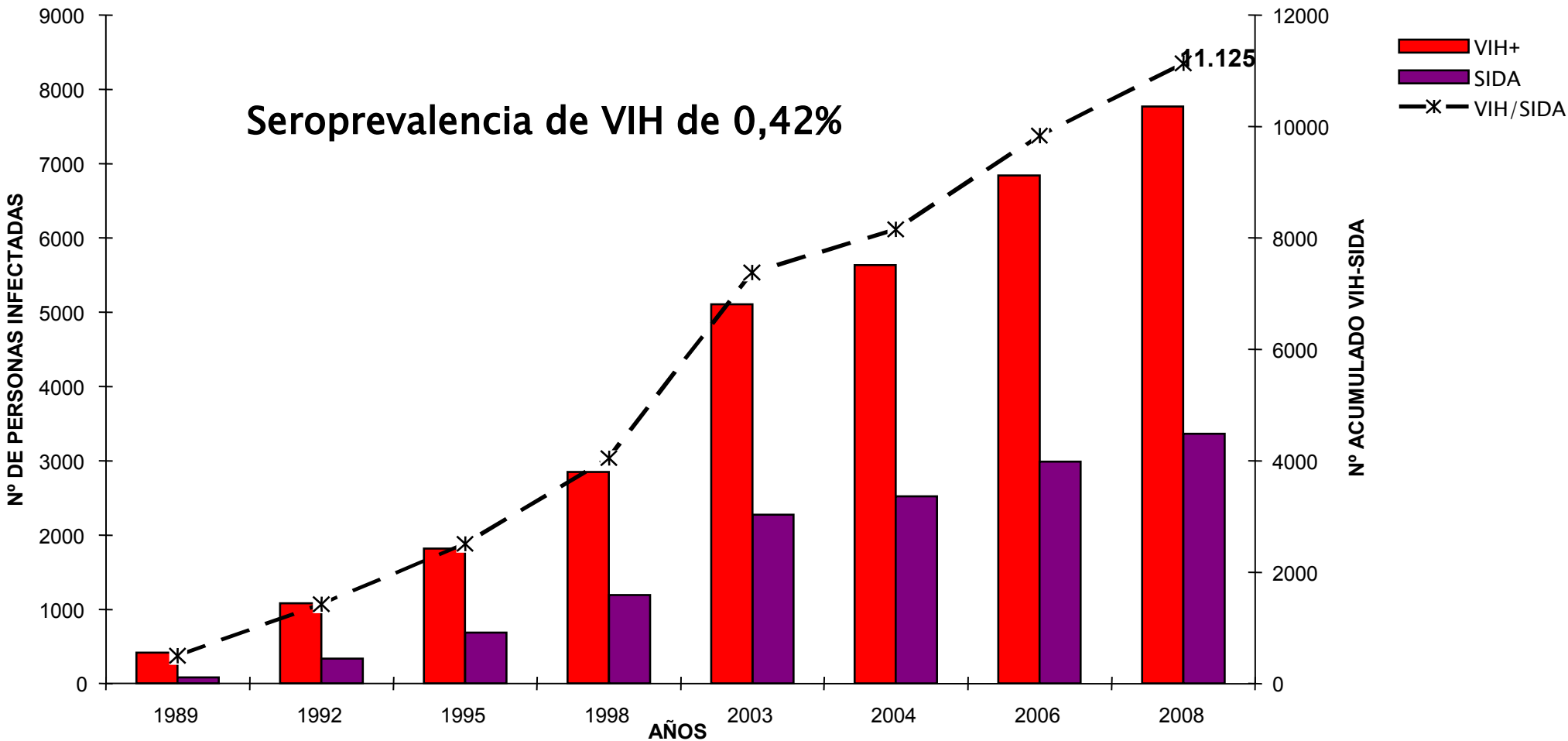
Total: 33 (30 – 36,0) millones

Datos ONUSIDA 2008

**HSex:** Heterosexual, **HSH:** hombres que tienen relaciones sexuales con hombres, **UDI:** Usuarios de Drogas Inyectables.

# Epidemia de VIH en Uruguay

DISTRIBUCIÓN ACUMULADA DE PERSONAS VIVIENDO CON VIH  
Y PERSONAS CON SIDA



Informe Epidemiológico VIH/SIDA \_ 31/12/08  
Sector ITS/VIH-SIDA- Ministerio de Salud Pública



**1983- inicio de la epidemia de VIH**

# Epidemia de VIH en Uruguay

- ✓ En relación al análisis geográfico,

los departamentos de **Montevideo y Maldonado**, presentan las tasas más altas de infección /100.000 habitantes, siguiéndole **Rocha, Rivera, Artigas**.

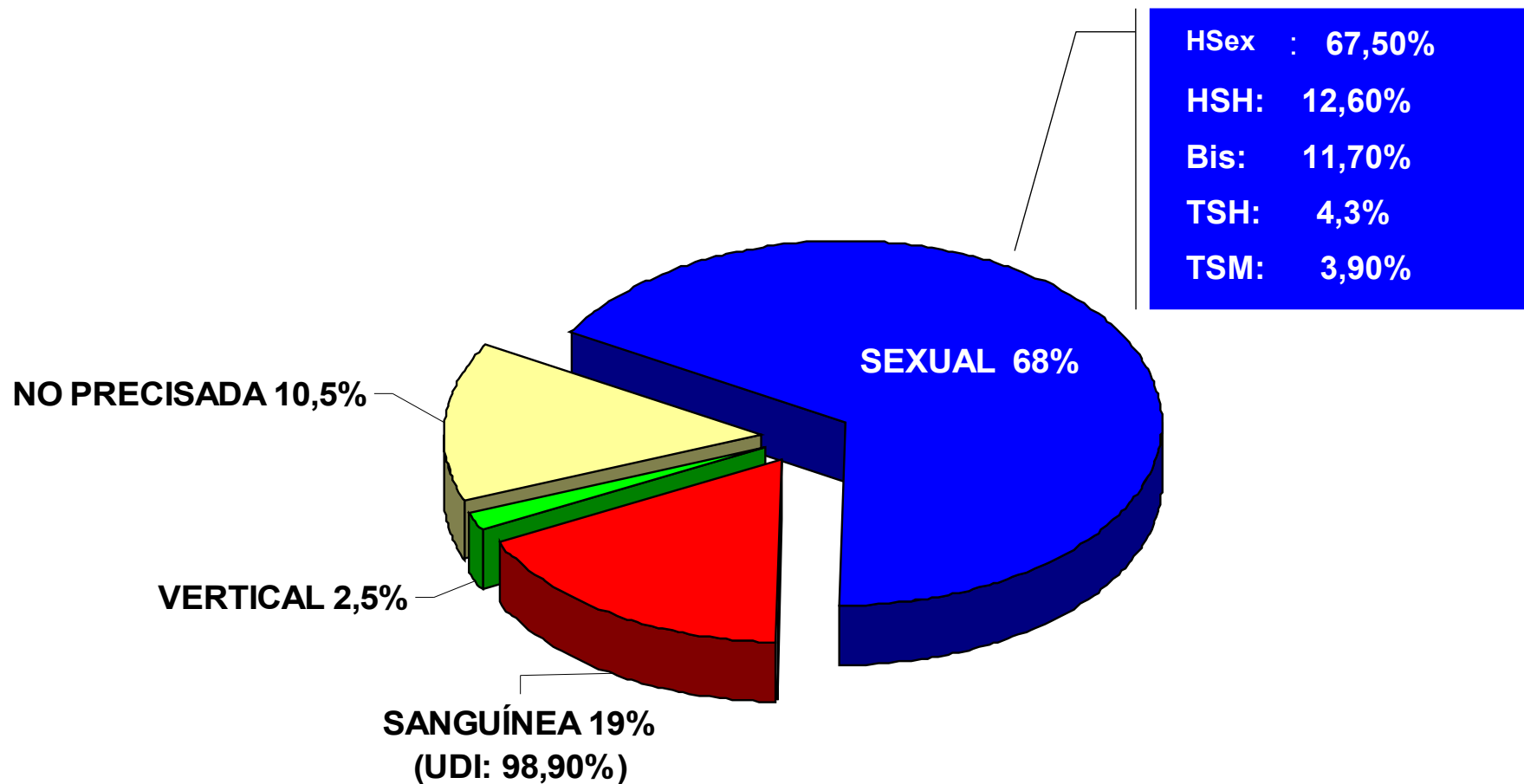
- ✓ En relación al sexo

65,5 % población de varones  
34,0% población de mujeres  
No indicado sexo: 0,5%

- ✓ En relación a la edad

Edad de máxima incidencia entre 15 y 34 años, aunque afecta a todos los grupos etarios.

# Mecanismos de Transmisión VIH en Uruguay





Uno de los riesgos de ésta epidemia es el ***Silencio***

Rompamos el silencio y derribemos los obstáculos que impiden una prevención y atención del VIH/SIDA eficaces.